

Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis
ISSN Cetak : 2087-9423
ISSN Elektronik : 2085-6695

Vol. 9 No. 2, Hlm. 605-617, Desember 2017
<http://journal.ipb.ac.id/index.php/jurnalikt>
DOI: <http://dx.doi.org/10.29244/jitkt.v9i2.19295>

PROFIL ASAM AMINO DAN SENYAWA BIOAKTIF KUDA LAUT *Hippocampus comes*

AMINO ACID PROFILE AND BIOACTIVE COMPOUNDS OF SEAHORSE *Hippocampus comes*

Evi Maya Sari*, Mala Nurilmala, dan Asadatun Abdullah

Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK-IPB
Kampus IPB Dramaga, Jl. Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat
Telp. (0251) 8622909-8622907, Fax (0251) 8622907

*E-mail: evimayasari2@gmail.com

ABSTRACT

Seahorse is one of the marine living resources usually used as ornamental fish, traditional medicinal materials, and souvenirs. The purpose of the study was to determine the proximate composition of wet and dry seahorses, determine the profile of amino acid hydrolyzate and powder of seahorses, and determines to content of bioactive compounds from the ethanol extract of seahorses on qualitatively. The sample of this study is seahorses obtained from nature. Previously, seahorses were morphometric identified, subsequently, seahorses were made of the powder, hydrolyzate, and ethanol extract. Several analyzes used were qualitative analysis of proximate, amino acid, and phytochemical analysis. Morphometric identification results indicate that the type is *H. comes*. The proximate composition is ash content of $28.21 \pm 0.17\%$ (fresh) and $10.76 \pm 0.19\%$ (powder), lipid content $3.470 \pm 0.66\%$ (fresh) and $5.45 \pm 0.31\%$ (powder), protein content of $67.17 \pm 0.14\%$ (fresh) and $77.88 \pm 0.85\%$ (powder), carbohydrate $1.16 \pm 0.68\%$ (fresh) and $6.17 \pm 0.37\%$ (powder). The amino acid composition both on hydrolyzate and powder comprising 8 essential amino acids are lysine, leucine, isoleucine, phenylalaline, valine, methionine, histidine, and threonine and 7 non essential amino acids are tyrosine, alanine, glycine, serine, arginine, glutamic acid, and aspartic acid. The results of identification of bioactive compounds is flavonoids, triterpenoids, steroids, saponins, and phenol of hydroquinone.

Keywords: *H. comes*, proximate analysis, amino acid, and bioactive compounds

ABSTRAK

Kuda laut merupakan salah satu sumberdaya hayati laut yang banyak dimanfaatkan sebagai ikan hias, bahan obat tradisional, dan cinderamata. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan kandungan proksimat kuda laut segar dan kering, menentukan profil asam amino hidrolisat dan tepung kuda laut, dan menentukan kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak etanol kuda laut secara kualitatif. Sampel penelitian ini adalah kuda laut yang didapat dari alam. Kuda laut sebelumnya diidentifikasi secara morfometrik, selanjutnya dibuat dalam bentuk tepung, hidrolisat, dan ekstrak etanol. Analisis yang digunakan adalah analisis proksimat, analisis asam amino, dan uji fitokimia secara kualitatif. Hasil identifikasi morfometrik menyebutkan bahwa jenis kuda laut yang digunakan adalah *H. comes*. Kandungan proksimat kuda laut *H. comes* adalah kadar abu $28,21 \pm 0,17\%$ (segar) dan $10,76 \pm 0,19\%$ (tepung), kadar lemak $3,470 \pm 0,66\%$ (segar) dan $5,45 \pm 0,31\%$ (tepung), kadar protein $67,17 \pm 0,14\%$ (segar) dan $77,88 \pm 0,85\%$ (tepung), dan karbohidrat $1,16 \pm 0,68\%$ (segar) dan $6,17 \pm 0,37\%$ (tepung). Komposisi asam amino hidrolisat dan tepung kuda terdiri atas 8 jenis asam amino esensial yaitu lisina, leusina, isoleusina, fenilalalina, valina, metionina, histidina, dan treonina dan 7 jenis asam amino non esensial yaitu tirosina, alanina, glisina, serina, arginina, asam glutamat, dan asam aspartat. Hasil uji fitokimia secara kualitatif pada *H. comes* yaitu flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan fenol hidrokuinon.

Kata kunci: *H. comes*, analisis proksimat, asam amino, dan senyawa bioaktif

I. PENDAHULUAN

Kuda laut *Hippocampus* spp. merupakan spesies dari biota laut yang unik dan distribusinya tersebar diseluruh dunia. Kuda laut sering dijumpai pada perairan dangkal seperti pada ekosistem lamun (Lourie *et al.*, 1999). Kuda laut merupakan salah satu sumberdaya hayati laut yang memiliki nilai komersial dan telah banyak diperdagangkan sebagai ikan hias, bahan baku obat tradisional dan juga untuk cinder mata atau hiasan (Chang *et al.*, 2013). Pemanfaatan kuda laut di Cina lebih banyak digunakan sebagai obat tradisional Cina dalam bentuk kering dibandingkan dengan penjualannya sebagai ikan hias aquarium (Panithanarak, 2015). Konsumsi kuda laut di wilayah Asia mencapai 45 ton/tahun dengan negara yang mengkonsumsi terbesar adalah Cina (20 ton/tahun), Taiwan (11,2 ton/tahun), Hongkong (10 ton/tahun) dan negara-negara asia lainnya (3,8 ton/tahun) (BBLBatam, 2014).

Jenis kuda laut yang ditemukan di Indonesia antara lain adalah *Hippocampus barbouri*, *Hippocampus bargibanti*, *Hippocampus comes*, *Hippocampus histrix*, *Hippocampus kelloggi*, *Hippocampus kuda*, *Hippocampus spinosissimus*, *Hippocampus trimaculatus* dan *Hippocampus* sp. Nov (Lourie *et al.*, 2004). Beberapa jenis kuda laut diatas sering dimanfaatkan untuk obat tradisional dan ikan hias. Jenis kuda laut yang dapat dibudidayakan seperti yang dilakukan oleh nelayan di Pulau Badi, Sulawesi Selatan adalah *H. barbouri*, *H. comes*, dan *H. kuda*. Jenis tersebut merupakan jenis dari kuda laut yang paing sering dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan tradisional dan digunakan sebagai ikan hias (Dwiputra, 2013). Berdasarkan uraian tersebut, sehingga sampel kuda laut yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuda laut jenis *H. comes*.

Manfaat dari mengkonsumsi kuda laut bagi masyarakat Cina adalah sebagai obat tradisional untuk penambah stamina (Zhang and Lei, 2008), selain itu kuda laut

juga digunakan untuk campuran arak/minuman beralkohol, kapsul, pil, dan sup kuda laut untuk dikonsumsi oleh manusia (Lin *et al.*, 2008). Berbagai manfaat kuda laut dalam dunia farmasi dan pengobatan adalah dapat digunakan sebagai *antifatigue* dengan nilai aktivitas proliferasi sel 160% (Kang *et al.*, 2014). Manfaat lain yaitu sebagai menghambat aktivitas oksidasi dengan nilai IC₅₀ 43,8 ppm (Qian *et al.*, 2012), menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli* dengan nilai zona hambat 4 mm, dan dapat menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dengan zaona hambat 2 mm. Banyaknya manfaat kuda laut tersebut dikarenakan terdapatnya kandungan senyawa bioaktif yang kompleks. Senyawa bioaktif yang biasa terdapat dalam bahan aktif adalah senyawa metabolit sekunder dan metabolit primer (Kumaravel *et al.*, 2015). Beberapa manfaat yang dimiliki kuda laut tersebut, sehingga masyarakat dapat memanfaatkan khasiatnya sebagai alternatif dalam pengobatan secara alami (Su and Xu, 2015). Manfaat lain dari kuda laut salah satunya sebagai sumber makanan protein hewani yang banyak gizi dan sangat baik dikonsumsi oleh manusia.

Protein merupakan suatu zat yang penting dalam tubuh. Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein yang memiliki fungsi metabolisme dalam tubuh dan dibagi dua kelompok yaitu asam amino esensial dan non-esensial (Mandila dan Hidajati, 2013). Asam amino esensial merupakan asam amino yang tidak dapat dibuat oleh tubuh dan harus diperoleh dari makanan sumber protein. Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat dibuat oleh tubuh manusia. Mutu protein dinilai dari perbandingan asam-asam amino yang terkandung dalam protein tersebut (Winarno, 2008). Perbedaan jumlah kandungan pada jenis asam amino yang terdapat di dalam kuda laut sangat berperan dalam memberikan manfaat kepada manusia.

Kandungan nutrisi kuda laut selain protein yaitu vitamin, mineral, karbohidrat,

serat, dan lainnya. Kandungan nutrisi kuda laut tersebut berpotensi sebagai suplemen makanan untuk kesehatan manusia (Lin *et al.*, 2008). Penelitian terkait dengan analisis proksimat dan kandungan asam amino yang terkandung dalam kuda laut baik dalam tepung ataupun hidrolisatnya, serta dilakukan identifikasi senyawa bioaktif dari ekstrak etanol kuda laut sangat penting dilakukan. Hal ini dikarenakan masih kurangnya informasi mengenai karakteristik kimia dari kuda laut yang penting untuk masyarakat. Tujuan penelitian adalah untuk menentukan kandungan proksimat kuda laut segar dan kering, menentukan profil asam amino hidrolisat dan tepung kuda laut, dan menentukan kandungan senyawa bioaktif dari ekstrak etanol kuda laut secara kualitatif.

II. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Desember 2016 sampai dengan Januari 2017. Tempat penelitian dilakukan di beberapa laboratorium, untuk persiapan sampel dilaksanakan di Laboratorium Biomelekuler Hasil Perairan Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK IPB. Analisis proksimat dilaksanakan di Laboratorium Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, LPPM IPB. Analisis skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Analitik Departemen Kimia, FMIPA IPB.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah kuda laut segar yang didapat dari nelayan. Bahan yang digunakan dalam analisis proksimat adalah selenium, H_2SO_4 pekat, akuades, NaOH 30%, fenol-ftalein, asam borat (H_3BO_3) 2%, bromocresol hijau 0,1%, merah metil 0,1%, HCl, dan H_3BO_3 , H_2SO_4 1,25%, NaOH 1,25%, dan alkohol. Bahan yang digunakan untuk pengujian metabolit sekunder adalah akuades, etanol 96%, NH_3 , NH_4Cl , serbuk Mg, HCl

pekat, $FeCl_3$, dietil eter, asam sulfat, NaOH 10%.

Alat yang digunakan dalam analisis proksimat adalah cawan, cawan porselin, labu soxhlet, labu kjeldahl, desikator, erlenmeyer, kertas saring, corong, timbangan analitik, timbangan digital, oven, gelas ukur, blender, dan *beaker glass*. Alat-alat yang digunakan untuk pengujian metabolit sekunder adalah evaporator, petridisk, dan erlenmeyer.

2.3. Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian ini terdiri dari tiga tahap. Tahap pertama yaitu identifikasi karakteristik morfometrik dan analisis proksimat dari sampel kuda laut segar dan kering. Tahap kedua yaitu pembuatan ekstrak etanol, hidrolisat, dan tepung kuda laut. Tahap terakhir yaitu melakukan uji fitokimia pada ekstrak etanol kuda laut dan analisis asam amino pada hidrolisat, ekstrak etanol, dan tepung kuda laut.

2.4. Metode Analisis

2.4.1. Identifikasi Morfometrik

Identifikasi morfologi mengacu pada metode Lourie *et al.* (2004) meliputi beberapa parameter panjang tubuh, jumlah cincin ekor, tonjolan mata, tonjolan dagu, jumlah sirip insang, dan jumlah sirip punggung dari kuda laut. Karakteristik morfologi kuda laut diamati dan disamakan dengan karakteristik yang terdapat pada buku identifikasi *marine fishes of South-East Asia*. Karakteristik yang disamakan berupa morfometrik kuda laut yang menjadi ciri khas spesies.

2.4.2. Metode Analisis Proksimat

2.4.2.1. Kadar Air

Cawan porselin dikeringkan dengan oven pada suhu $105^\circ C$ selama 60 menit. Selanjutnya cawan didinginkan dalam desikator selama 30 menit, lalu ditimbang bobot kosongnya. Sampel sebanyak 2 gram ditimbang kemudian dimasukkan ke cawan dan dikeringkan dengan menggunakan oven sampai bobot konstan pada suhu $105^\circ C$

selama waktu tertentu (bobot konstan), proses selanjutnya cawan beserta isinya kemudian didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang hingga diperoleh berat yang konstan. Penentuan kadar air dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Kadar air dihitung dengan rumus berikut :

$$\text{Kadar Air (\%)} = \frac{B-A}{A} \times 100\% \dots\dots\dots(1)$$

Keterangan: A = Bobot sampel kering (g); B = Bobot sampel (g).

2.4.2.2.Kadar Lemak

Labu lemak dikeringkan dalam oven suhu 105°C selama 30 menit, lalu disimpan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 5 g langsung dalam saringan timbal yang sesuai ukuran. Pelarut lemak (heksana) dimasukkan ke dalam labu lemak dan dilakukan ekstraksi selama 3-4 jam. Setelah selesai, pelarut disuling kembali dan labu lemak diangkat dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C sampai tidak ada penurunan berat lagi. Labu lemak disimpan dalam desikator selama 20-30 menit dan ditimbang (B).

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{(B-A)}{S} \times 100\% \dots\dots\dots(2)$$

Keterangan: S = berat contoh sampel (gram); A= berat labu lemak tanpa lemak (gram); B= berat labu lemak dengan lemak (gram).

2.4.2.3.Kadar Abu

Cawan pengabuan dibersihkan dan dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit lalu didinginkan selama 15 menit dalam desikator dan ditimbang hingga menunjukkan berat yang konstan. Selanjutnya sampel sebanyak 5 gram dimasukkan dalam cawan pengabuan dan dipijarkan di atas nyala api hingga tidak berasap. Sampel dimasukkan dalam tanur pengabuan dengan 600°C selama waktu tertentu (bobot konstan). Cawan berisi sampel didinginkan dalam desikator selama 30 menit kemudian

ditimbang hingga diperoleh bobot konstan. Penentuan kadar abu dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Rumus yang digunakan untuk penghitungan kadar abu adalah :

$$\text{Kadar Abu (\%)} = \frac{C-A}{B} \times 100\% \dots\dots\dots(3)$$

Keterangan : A = Bobot cawan kosong (g); B = Bobot sampel (g); C: Bobot cawan kosong + sampel yang telah diabukan (g).

2.4.2.4.Kadar Protein

Pengukuran kadar protein dilakukan dengan metode semimikro *Kjeldahl*. Sampel ditimbang sebanyak 0,5 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu *Kjeldahl* 100 mL, lalu ditambahkan 2 g campuran selenium dan 25 mL H₂SO₄ pekat. Sampel didestruksi pada suhu 410°C selama kurang lebih 2 jam sampai larutan berwarna hijau jernih lalu didinginkan. Selanjutnya sampel dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan ditambahkan akuades sampai dengan tanda tera. Sampel larutan tersebut diambil sebanyak 5 mL, ditambahkan 5 mL NaOH 30%, dan indikator fenolftalein (PP) kemudian didistilasi dengan suhu destilator 100°C selama kurang lebih 10 menit. Hasil distilasi ditampung dalam labu Erlenmeyer 250 mL yang berisi 10 mL asam borat (H₃BO₃) 2% dan indikator campuran dari bromocresol hijau 0,1% dan merah metil 0,1% dengan perbandingan 5 : 1. Sebelumnya HCl distandarisasi dengan (H₃BO₃), kemudian dilakukan destilasi sampai diperoleh larutan berwarna hijau kebiruan. Destilat yang dihasilkan dititrasi dengan HCl 0,01 N sampai warna larutan berubah warna menjadi merah muda. Volume titran dibaca dan dicatat. Penetapan blanko dilakukan seperti tahapan sampel. Kadar protein dihitung dengan rumus:

$$\text{Nitrogen (\%)} = \frac{(V1 - V2) \times N \times 14,007 \times FP}{W} \times 100\% \dots\dots\dots(4)$$

$$\text{Protein (\%)} = \text{Nitrogen (\%)} \times 6,25$$

Keterangan: V_1 = Volume HCl 0,01 N untuk titrasi sampel (mL); V_2 = Volume HCl 0,01 N untuk titrasi blanko (mL); N = Normalitas HCl standar yang digunakan (N); FP = Faktor pengenceran; W = Bobot sampel kering (mg).

2.4.2.5. Kadar Karbohidrat (*By Difference*)

Kadar karbohidrat dihitung dengan menghitung sisa (*by difference*) dari selisih berat utuh (100%) yaitu dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar Karbohidrat (\%)} = 100\% (\% \text{air} + \% \text{abu} + \% \text{lemak} + \% \text{protein}) \dots\dots\dots (5)$$

2.4.3. Metode Analisis Asam Amino

2.4.3.1. Pembuatan Hidrolisat Protein

Kuda Laut

Metode pembuatan hidrolisat protein kuda laut ini mengacu pada metode Karnila *et al.* (2011) dengan modifikasi. Pembuatan hidrolisat protein kuda laut melalui reaksi hidrolisis enzimatis menggunakan enzim alkalase. Sampel kuda laut sebelumnya dipotong kecil-kecil dan diblender hingga halus, kemudian sampel kuda laut tersebut dikering bekukan sampai menjadi tepung atau tepung kuda laut. Proses selanjutnya adalah tepung kuda laut dicampur dengan akuades dan dihomogenisasikan dengan blender selama 1 menit. Enzim alkalase 2% ditambahkan dan dihidrolisis menggunakan *water bath shaker* suhu 55°C selama 3 jam dengan pH 8. Inaktivasi enzim dilakukan pada suhu 85°C selama 20 menit untuk menghentikan proses hidrolisis, selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C, untuk memisahkan fraksi terlarut (supernatan) dan fraksi yang tidak larut (pellet). Supernatan sebanyak 250 ml selanjutnya dipekatkan dengan evaporator selama 60 menit. Penyimpanan dilakukan dalam *freezer* suhu $\pm -15^\circ\text{C}$ untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

2.4.3.2. Analisis Asam Amino

Analisis asam amino dilakukan untuk mengetahui karakteristik asam amino yang terdapat pada produk. Sampel yang digunakan untuk melakukan analisis asam amino adalah tepung kuda laut dan hidrolisat kuda laut. Prinsip analisis asam amino menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) adalah memanfaatkan reaksi pra kolom gugus amino primer dalam suasana basa, mengandung merkaptoetanol membentuk senyawa yang berfluoresensi sehingga dapat dideteksi dengan detector fluoresensi. Larutan buffer kalium borat pH 10,4 ditambahkan kedalam sampel dengan perbandingan 1:1 sehingga diperoleh larutan sampel yang siap dianalisis. Larutan sampel sebanyak 10 μL dicampur dengan 25 μL pereaksi ortoftalaldehid (OPA). Hal yang sama dilakukan pada larutan standar asam amino. Larutan yang telah tercampur (baik sampel maupun standar) didiamkan selama 1 menit agar derivatisasi berlangsung sempurna. Larutan standar diinjeksikan ke dalam kolom HPLC sebanyak 5 μL , lalu ditunggu sampai pemisahan semua asam amino selesai.

2.4.4. Analisis Kualitatif Fitokimia

2.4.4.1. Pembuatan Ekstrak Etanol Kuda

Laut

Kuda laut dibuang isi perutnya lalu di cuci dengan akuades dan ditimbang sebanyak 50 gram. Sampel dipotong dan dihancurkan sampai berukuran kecil lalu direndam menggunakan etanol 96% sebanyak 200 mL, direndam selama 3 hari dengan 1 kali pengocokan tiap harinya. Perbandingan sampel dengan pelarut adalah 50:200 (w/v). Setelah 3 hari dilakukan penyaringan menggunakan saringan teh dan kertas whatman 42. Maserasi dilakukan hingga pelarut bewarna bening atau keruh. Setelah proses maserasi selesai dilakukan proses evaporasi menggunakan evaporator dengan suhu 45°C. Hasil Ekstrak di uji secara kualitatif dengan uji fitokimia.

2.4.4.2. Analisis Kualitatif Fitokimia

Uji fitokimia Alkaloid dengan melarutkan 1 g sampel dengan beberapa tetes asam sulfat (H_2SO_4) 2 N. Pengujian dilakukan menggunakan tiga pereaksi alkaloid yaitu pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer, dan Pereaksi Wagner. Pereaksi Dragendorff dibuat dengan cara 0,8 g bismutsubnitrat ditambahkan dengan 10 mL asam asetat dan 40 mL air. Larutan ini dicampur dengan larutan yang dibuat dari 8 g KI dalam 20 mL air. Satu volume campuran ini sebelum digunakan diencerkan dengan 2,3 volume asam asetat glasial dan 100 mL air. Pereaksi ini berwarna jingga. Pereaksi Meyer dibuat dengan cara menambahkan 1,36 g $HgCl_2$ dengan 0,5 g KI lalu dilarutkan dan diencerkan dengan akuades menjadi 100 mL dengan labu takar. Pereaksi ini tidak berwarna. Pereaksi Wagner dibuat dengan cara 10 mL akuades ditambahkan 2,5 g iodine dan 2 g KI lalu dilarutkan dan diencerkan dengan akuades menjadi 200 mL dalam labu takar. Pereaksi ini berwarna coklat. Hasil uji dinyatakan positif bila dengan pereaksi Dragendorff terbentuk endapan merah hingga jingga, endapan putih kekuningan dengan pereaksi Meyer dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

Uji fitokimia flavonoid dengan melarutkan 1 g sampel ditambahkan 0,1 mg serbuk magnesium dan 0,4 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Adanya flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

Uji fitokimia fenol hidrokuinon dengan melarutkan 1 g diekstrak dengan 20 mL etanol 70%. Larutan yang dihasilkan diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan $FeCl_3$ 5%. Adanya senyawa fenol dalam bahan ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau hijau biru.

Uji fitokimia Saponin dapat dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa yang

stabil selama 30 menit dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2 N menunjukkan adanya saponin.

Uji fitokimia Steroid dengan melarutkan 1 g sampel dilarutkan dalam 2 mL kloroform dalam tabung reaksi yang kering. Sampel ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Reaksi positif ditunjukkan dengan terbentuknya larutan berwarna merah untuk pertama kali kemudian berubah menjadi biru dan hijau.

Uji fitokimia Tanin dengan Sampel sebanyak 1 g ditambah pereaksi $FeCl_3$ 3%. Adanya warna hijau kehitaman menandakan suatu bahan mengandung komponen tanin.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Identifikasi Morfometrik Kuda Laut

Berdasarkan hasil identifikasi morfometrik, sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah spesies *Hippocampus comes*. Hasil tersebut diketahui dengan melihat ciri-ciri morfologi dari *H. comes* yaitu duri pipi ganda, duri depan mata kadang menonjol, tulang belakang hidung tajam, panjang, moncong ramping, duri punggung tumpul, mahkota rendah, tidak ada duri ekor/halus. Warna atau pola: ada bintik atau bercak pola pada tubuh; kadang memiliki garis putih halus pada mata; ada warna kuning kemerahan pada ekor dan membentuk garis. Karakteristik secara morfologi dari kuda laut *H. comes* tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakteristik kuda laut *H. comes*.

No	Deskripsi	Jumlah
1	Panjang tubuh (cm)	13,6
2	Jumlah cincin ekor (unit)	35
3	Tonjolan mata (unit)	1
4	Tonjolan dagu (unit)	2
5	Jumlah sirip insang (unit)	16
6	Jumlah sirip punggung (unit)	17
7	Berat Total (gram)	14

Habitat dari kuda laut ini biasanya ditemukan pada kedalaman maksimum < 10 m, dan beberapa hasil penelitian menyebutkan bahwa keberadaannya sampai dengan kedalaman 20 m. Habitat hidupnya pada ekosistem terumbu karang, lamun, spons, sargassum. Beberapa hasil penelitian menyebutkan bahwa kuda laut *H. comes* lebih menyukai sargassum sebagai tempat hidupnya (Lourie *et al.*, 2004). Dokumentasi kuda laut *H. comes* dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kuda laut *H. comes*.

3.2. Kandungan Proksimat Kuda Laut *H. comes*

Analisis proksimat dilakukan dengan tujuan mengetahui kandungan gizi secara kasar (*crude*). Analisis proksimat kuda laut segar dan tepung kuda laut ini bertujuan untuk melihat perbedaan jumlah komponen yang ada didalam kuda laut, dalam kondisi segar dan bentuk olahannya. Brown dan Murphy (1991) menyatakan bahwa kandungan proksimat pada tubuh kuda laut mencirikan kondisi fisiologis dan kesehatan kuda laut. Umumnya komposisi tubuh kuda laut diperoleh dengan analisis proksimat, namun pengukuran kondisi fisiologis juga dapat ditentukan menggunakan perbandingan hubungan berat dan panjang standar pada sampel yang digunakan. Komposisi prok-

simat dari kuda laut yang dianalisis antara lain kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein, dan karbohidrat. Hasil analisis proksimat kuda laut berdasarkan berat kering (*dry basis*) dapat dilihat pada Tabel 2.

Kadar abu merupakan komponen yang tidak mudah menguap dan tetap tinggal dalam pembakaran dan pemijaran senyawa organik. Kadar abu yang terkandung di dalam kuda laut segar adalah $28,21 \pm 0,17\%$ dan setelah mengalami proses pembuatan menjadi tepung sebesar $10,76 \pm 0,19\%$. Nilai kadar abu tepung kuda laut lebih rendah dibandingkan dengan kuda laut segar. Hal ini menunjukkan terjadinya penurunan kandungan kadar abu selama proses pembuatan tepung kuda laut. Sudarmadji *et al.* (2007) menyebutkan bahwa penurunan kadar abu salah satunya disebabkan oleh hilangnya atau menguapnya mineral-mineral pada saat proses penguapan yang tinggi.

Kadar protein pada kuda laut segar adalah $67,17 \pm 0,14\%$ dan setelah proses pembuatan tepung kuda laut menjadi $77,88 \pm 0,85\%$. Terjadi peningkatan kadar protein pada saat proses pembuatan tepung kuda laut. Meningkatnya kadar protein tersebut diduga dikarenakan pencampuran dari beberapa jenis kelamin kuda laut yang digunakan dan status reproduksi dari kuda laut yang dijadikan sampel. Lourie *et al.* (1999) menjelaskan bahwa perbedaan kandungan kimia dari kuda laut tersebut dikarenakan pada kondisi lingkungan perairan sekitar, habitat tempat hidup, komposisi makanan dari kuda laut, jenis kelamin dan status reproduksinya.

Kadar lemak yang terdapat pada kuda laut segar adalah $3,470 \pm 0,66\%$, sedangkan pada tepung kuda laut $5,50 \pm 0,31\%$. Kadar lemak pada tepung kuda laut mengalami peningkatan pada saat proses pembuatan tepung. Hal ini diduga terjadi penambahan kalori dan terjadi proses polimerisasi. Proses tersebut akan merubah jumlah kadar lemak dan dapat mempengaruhi rasa dari produk. Kandungan lemak setiap bahan pangan berbeda, tergantung pada asal dari bahan

Tabel 2 Komposisi proksimat kuda laut segar dan tepung kuda laut.

No	Komposisi Proksimat	Kuda Laut Segar (%)	Tepung Kuda Laut (%)
1	Kadar Abu	28,21±0,17	10,76±0,19
2	Kadar Lemak	3,470±0,66	5,450±0,31
3	Kadar Protein	67,17±0,14	77,88±0,85
4	Karbohidrat	1,160±0,68	6,170±0,37

pangan dan proses pembuatan bahan pangan tersebut (Winarno, 2008).

Karbohidrat merupakan salah satu komponen gizi yang sangat penting karena berperan sebagai sumber energi. Penentuan kadar karbohidrat pada penelitian ini dengan cara *by difference* yang berarti kandungan karbohidrat yang diperoleh dari hasil pengurangan angka 100 dengan presentase komponen lain (air, abu, protein dan lemak). Kadar karbohidrat kuda laut segar adalah 1,160±0,68% dan setelah mengalami proses pembuatan tepung menjadi 6,170±0,37%. Terjadi peningkatan pada kadar karbohidrat setelah proses pembuatan tepung sebesar 5%. Tingginya kadar karbohidrat pada tepung kuda laut tersebut menunjukkan bahwa tepung kuda laut sangat baik dijadikan sebagai salah satu sumber pangan.

3.3. Asam Amino Kuda Laut *H. comes*

Kualitas protein dari suatu bahan dapat ditentukan dari kandungan asam amino yang menyusunnya (Wu *et al.*, 2010). Analisis asam amino ini digunakan untuk mengetahui jumlah kandungan asam amino dan jenis asam amino yang ada di dalam kuda laut dalam bentuk hidrolisat dan tepung kuda laut. Menurut Lansida (2011), metode HPLC berasal dari pemutusan ikatan hidrogen pada protein melalui hidrolisis asam. Menurut Kamiya *et al.* (2002) asam amino sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia. Beberapa fungsi asam amino yaitu memperbaiki jaringan yang rusak setelah luka, melindungi hati dari berbagai zat toksik, menurunkan tekanan darah, mengatur metabolisme kolesterol, mendorong sekresi hormon pertumbuhan, dan mengurangi kadar amonia di dalam darah.

Berdasarkan jenisnya, terdapat 2 (dua) jenis asam amino yaitu asam amino non esensial dan asam amino esensial. Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat dibuat dalam tubuh disebut juga asam amino endogen, sedangkan asam amino esensial merupakan asam amino yang tidak dapat dibuat dalam tubuh dan hanya bisa diperoleh dengan mengkonsumsi makanan yang mengandung protein (Winarno, 2008). Hasil pengujian asam amino pada kuda laut pada bentuk hidrolisat maupun pada bentuk tepung menunjukkan 15 jenis asam amino yang terdiri atas 8 jenis asam amino esensial dan 7 jenis asam amino non esensial. Asam amino esensial yang terdapat pada kuda laut pada bentuk hidrolisat dan tepung yaitu histidina, treonina, valina, metionina, isoleusina, leusina, fenilalanina, dan lisina, sedangkan asam amino non esensial, yaitu asam aspartat, asam glutamat, serina, glisina, alanina, arginina dan tirosina.

Perbedaan nilai kandungan protein hidrolisat kuda laut lebih tinggi 20,15% dibandingkan dengan protein tepung. Hasil pengujian total asam amino dari hidrolisat kuda laut lebih tinggi 9,86% dari asam amino tepung kuda laut. Hasil analisis asam amino menunjukkan bahwa kandungan asam amino pada hidrolisat kuda laut kualitasnya lebih baik daripada tepung kuda laut, akan tetapi terdapat 2 jenis asam amino yang lebih tinggi pada sampel tepung yaitu arginina (4,82%) dan treonina (2,02%). Semua protein yang dihidrolisis akan menghasilkan asam-asam amino, tetapi ada beberapa protein yang disamping menghasilkan asam amino juga menghasilkan molekul-molekul protein yang masih berikatan (West dan Todd, 1964).

Tabel 3. Hasil analisis asam amino kuda laut *H. comes* dalam tepung hidrolisat dan tepung (%).

Parameter	Hidrolisat <i>H.comes</i>	Tepung <i>H.comes</i>	<i>H. kuda</i> *	<i>H. comes</i> *
Kandungan Protein	73,63	53,48	70,70	76,59
Asam Amino Esensial				
Histidina	1,36	0,92	1,28	1,25
Treonina	1,89	2,02	2,52	2,80
Metionina	1,77	1,50	1,64	1,99
Valina	3,38	2,68	2,68	3,02
Fenilalalina	2,33	1,88	2,53	2,68
Isoleusina	2,64	1,98	1,87	2,01
Leusina	4,22	3,30	2,96	3,28
Lisina	6,80	3,47	3,12	3,42
Asam Amino Non Esensial				
Asam Aspartat	5,10	4,57	6,10	6,38
Asam Glutamat	9,13	7,33	7,62	8,39
Serina	1,99	1,79	2,31	2,72
Glisina	6,77	5,91	9,65	10,73
Alanina	5,46	4,70	5,68	6,55
Arginina	3,55	4,82	5,06	5,85
Tirosina	1,50	1,16	1,43	1,42
Total Asam Amino	57,89	48,03	56,45	62,49

Keterangan: * = Hasil penelitian Lin *et al.* (2008).

Kandungan asam amino pada kuda laut dapat dilihat pada Tabel 3. Kandungan asam amino tertinggi dari sampel hidrolisat dan tepung kuda laut tersebut adalah asam glutamat dengan nilai masing-masing 9,13% (hidrolisat) dan 7,33% (tepung). Kandungan asam amino terendah pada sampel hidrolisat dan tepung adalah histidina dengan nilai masing-masing 1,36% (hidrolisat) dan 0,92% (tepung). Schweigert *et al.* (2010) menyatakan bahwa tingginya kandungan asam glutamat yang terkandung dalam daging dikarenakan adanya deaminasi antara asam amino glutamin dan asparagina yang membentuk asam glutamat sehingga meningkatkan kadar asam glutamat pada daging. Helpert (2000) menyatakan bahwa asam glutamat mengandung ion glutamat yang dapat merangsang beberapa tipe syaraf

yang ada pada lidah manusia. Asam glutamat dan asam aspartat memberikan cita rasa pada *seafood*, namun dalam bentuk garam sodium seperti pada MSG akan memberikan rasa umami. Manfaat lain dari asam glutamat menurut Linder (1992) adalah untuk menahan konsumsi alkohol berlebih, mempercepat penyembuhan luka pada usus, meningkatkan kesehatan mental serta meredakan depresi.

Hasil analisis asam amino menunjukkan bahwa terdapat 8 (delapan) jenis asam amino esensial yang terkandung pada kuda laut yaitu lisina, leusina, isoleusina, fenilalanina, valina, metionina, histidina, dan treonina. Kandungan asam amino esensial tertinggi yang terdapat pada kuda laut, baik dalam bentuk hidrolisat dan tepung adalah lisina dengan nilai masing-masing 6,80% dan 3,47%. Suryaningrum *et al.* (2010) menyata-

kan bahwa, lisina merupakan asam amino esensial yang sangat dibutuhkan sebagai bahan dasar antibodi darah, memperkuat sistem sirkulasi, dan mempertahankan pertumbuhan sel-sel normal. Kekurangan lisin menyebabkan mudah lelah, sulit konsentrasi, rambut rontok, anemia, pertumbuhan terhambat, dan kelainan reproduksi.

Kandungan asam amino non esensial tertinggi yang terdapat pada kuda laut dalam bentuk hidrolisat dan tepung adalah asam glutamat (9,13%). Sama dengan hasil penelitian dari Purbasari (2008) yang menyebutkan bahwa asam glutamat merupakan asam amino tertinggi yang terdapat pada hidrolisat protein kerang mas ngur (*Atactodea striata*), yaitu sebesar 13,085%. Asam glutamat merupakan asam amino non esensial yang berperan dalam menunjang fungsi otak, mempermudah belajar dan memperkuat ingatan. Selain itu, asam glutamat juga bermanfaat untuk membantu dalam meningkatkan massa otot (memperbesar otot). Asupan asam glutamat yang berlebihan (lebih dari 120 mg per kg berat badan) per hari dapat menyebabkan kerusakan sistem syaraf sehingga dapat menimbulkan penyakit *alzheimer* dan *amyotrophic lateral sclerosis* (Winarno, 2008).

Jenis asam amino non esensial yang dimiliki oleh tepung kuda laut adalah arginina (4,82%). Jenis ini merupakan salah satu asam amino yang mampu menambah stamina. Villanueva *et al.* (2004) menyatakan bahwa arginina merupakan asam amino esensial yang diperlukan tubuh untuk pembuatan cairan seminal (air mani) dan memperkuat sistem imun. Arginina merupakan asam amino esensial yang bermanfaat dalam meningkatkan daya tahan tubuh atau produksi limfosit.

3.4. Kandungan Metabolit Sekunder Ekstrak *Hippocampus comes*

3.4.1. Senyawa Bioaktif Ekstrak Etanol

Identifikasi senyawa metabolit sekunder yang ada pada ekstrak etanol kuda

laut *H.comes* dilakukan dengan metode uji fitokimia secara kualitatif. Pengujian fitokimia ini digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa bioaktif apa saja yang terdapat pada kuda laut *H.comes* yang diperoleh secara kualitatif, sehingga diperoleh hasil positif dan negatif dari senyawa uji tersebut. Identifikasi senyawa bioaktif yang akan dilakukan dalam penelitian ini antara lain: senyawa flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, fenol hidrokuinon, alkaloid, dan tanin. Berikut ini adalah hasil dari identifikasi senyawa bioaktif ekstrak etanol kuda laut *H.comes* dapat dilihat pada Tabel 4.

Pengujian komponen senyawa bioaktif pada ekstrak etanol kuda laut secara kualitatif ini memiliki peran penting dalam mengetahui manfaat apa saja yang dapat dimiliki dan dihasilkan dari sampel kuda laut ini. Secara umum, hasil identifikasi senyawa bioaktif metabolit sekunder yang ada di ekstrak etanol kuda laut secara kualitatif meliputi flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan fenol hidrokuinon. Hasil dari penelitian Rumagit *et al.* (2015) dari ekstrak etanol dari spons *Lamellodysidea herbacea* menyebutkan bahwa kandungan metabolit sekunder dari hasil skrining fitokimia meliputi flavonoid, steroid, saponin, alkaloid, dan tanin.

Hasil pengujian senyawa flavonoid pada kuda laut *Hippocampus comes* Secara umum senyawa polar larut dalam pelarut polar seperti etanol. Etanol berfungsi sebagai pembebas flavonoid dari bentuk garamnya. Penambahan asam klorida pekat berfungsi untuk protonasi flavonoid hingga terbentuk garam flavonoid. Setelah penambahan tepung magnesium, hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna larutan menjadi hitam kemerahan. Warna hitam kemerahan yang dihasilkan menandakan adanya flavonoid akibat dari reduksi oleh asam klorida pekat dan magnesium (Harborne, 1987). Senyawa bioaktif lainnya yang mendapatkan hasil positif adalah steroid dan triterpenoid. Hal ini dibuktikan dengan perubahan warna larutan menjadi biru atau hijau saat ditambahkan

Tabel 4. Hasil identifikasi senyawa bioaktif ekstrak kuda laut *H. comes* secara kualitatif.

No	Senyawa uji	Hasil	Kondisi Ideal
1	Flavonoid	+	Warna lapisan atas lebih pekat dibandingkan lapisan bawah menunjukkan flavonoid positif
2	Triterpenoid	+	Berwarna merah
3	Steroid	+	Berwarna biru atau hijau (paling luar)
4	Saponin	+	Terbentuk busa
5	Fenol Hidrokuinon	+	Cream-merah
	Alkaloid:		
6	- Mayer	-	Terdapat endapan
	- Wagner		
	- Dargendraf		
7	Tanin	-	Terbentuk warna hijau – hitam

Keterangan: (+) ada; (-) tidak ada.

kloroform dan asam sulfat pekat yang menandakan adanya steroid dan ditengah-tengah terjadi perubahan larutan sampel menjadi merah sebelum menjadi hijau. Perubahan warna tersebut menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa triterpenoid. Steroid banyak dimanfaatkan pada hormon seksual untuk menjaga vitalitas, meningkatkan kerja kelenjar adrenalin, antiinflamasi dan menurunkan rasio densitas tinggi pada jantung.

Steroid memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan respon imun dan efek antiinflamasi, namun penggunaan steroid murni dinilai berbahaya sehingga digunakan kortikosteroid sebagai alternatif penggunaan aman senyawa steroid. Saponin merupakan glikosida alami yang terikat dengan steroid dan triterpena. Manfaat saponin antara lain sebagai imunomodulator, anti tumor, anti kanker, antibiotik, anti virus, antiinflamasi, hipokolesterol, hepatoprotektan, dan anti hiperglikemik. Keberadaan saponin dapat diketahui dengan timbulnya busa pada pengujian fitokimia (Widodo dan Alan, 2010).

IV. KESIMPULAN

Penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa pada spesies kuda laut yang teridentifikasi secara morfometrik adalah *H.*

comes. Sampel kuda laut segar dan tepung kuda laut mengandung komponen gizi berupa mineral, lemak, protein, dan karbohidrat. Komposisi asam amino hidrolisat dan tepung kuda laut terdiri atas 8 jenis asam amino esensial dan 7 jenis asam amino non esensial. Hasil uji fitokimia secara kualitatif pada *H. comes* yaitu flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan fenol hidrokuinon.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Ditjen Dikti, Kementerian Riset Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah membiayai penelitian ini melalui program BOPTN dengan skema penelitian PUPT Tahun 2017 Nomor: 011/ SP2H/ LT/ DRPM/ IV/ 2017 atas nama Dr. Mala Nurilmala serta seluruh pihak yang telah membantu kelancaran pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Arnanda, A.D., Ambariyanto, dan A. Ridlo . 2005. Fluktuasi kandungan proksimat kerang bulu (*anadara inflata reeve*) di perairan Pantai Semarang. *Ilmu Kelautan* 10(2):78-84.
- Balai Budidaya Laut Batam (BBLBatam). 2014. Potensi pengembangan budi-

- daya kuda laut (*Hippocampus kuda*) di Kepulauan Riau. Tersedia pada: <http://bblbatam.djpb.kkp.go.id/?p=785>. [Diakses tanggal 20 Agustus 2016].
- Chang, C.H., N.H. Jang-Liaw, Y.S. Lin, Y.C. Fang, and K.T. Shao. 2013. Authenticating the use of dried seahorse in the tradisional Chinese medicine market in Taiwan using molecular forensics. *J. of Food and Drug Analysis*, 21: 310-316.
- Dwiputra, M.A. 2013. Pemeliharaan juwana Kuda Laut (*Hippocampus barbouri*) dengan sistem resirkulasi. Tesis. Universitas Hasanuddin. 65hlm.
- Harborne, J.B. 1987. Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Padmawinata, K (penerjemah). ITB. Bandung. 275hlm.
- Kamiya, T., Miyukigaoka, T. Shi, and Ibaraki. 2002. Biological functions and health benefits of amino acids. *Food and Food Ingredients J.*, 68(3): 206-210.
- Kang, N., S.Y. Kim, S. Rho, J.Y. Ko, and Y.J. Jeon. 2014. Antifatigue activity of mixture of seahorse (*Hippocampus abdominalis*) hydrolysate and red ginseng. *Fisheries and Aquatic Science*, 20:1-8.
- Karnila, R., A. Made, dan W. Tutik. 2011. Potensi ekstrak hidrolisat, dan isolat protein teripang pasir (*Holothuria scabra* J.) untuk menurunkan kadar glukosa darah dan memperbaiki profil sel beta pankreas tikus diabetes melitus. Laporan Hasil Penelitian. Hibah Bersaing 2010. Universitas Riau. 120hlm.
- Kumaravel, K., S. Ravichandran, T. Balasubramanian, K.S. Subramanian, and B.A. Bhat. 2015. Antimicrobial effect of five seahorses species from Indian Coast. *British J. of Pharmacology and Toxicology*, 1(2):62-66.
- Lansida. 2011. High performance liquid chromatography (HPLC). <http://www.lansida.com>. [Diakses tanggal 2 April 2017].
- Lin, Q., J. Lin, and C. Wang. 2009. Biochemical composition of the wild and cultured seahorses, *Hippocampus kuda* Bleeker and *Hippocampus trimaculatus* Leach. *Aquaculture Research*, 40:710-719.
- Lin, Q., J. Lin, J. Lu, and B. Li. 2008. Biochemical composition of six seahorse species, *Hippocampus* sp., from the Chinese coast. *J. World Aquacult Soc*, 39:225-234.
- Linder, M.C. 1992. Biokimia nutrisi dan metabolisme dengan pemakaian secara kimia. Aminuddin, P. (penerjemah). UI Press. Jakarta. 74hlm.
- Lourie, S.A., A.C.J. Vincent, and H.J. Hall. 1999. Seahorses: an identification guide to the world's species and their conservation. Project Seahorse. London UK. 214p.
- Lourie, S.A., S.J. Foster, E.W.T. Cooper, and A.C.J. Vincent. 2004. A guide to the identification of seahorses. Project Seahorse and TRAFFIC. University of British Columbia and World Wildlife Fund. North America. 234p.
- Mandila, S.P. dan N. Hidajati. 2013. Identifikasi asam amino pada cacing sutra (*Tubifex* sp.) yang diekstrak dengan pelarut asam asetat dan asam laktat. *UNESA J. of Chemistry*, 2(1):103-109.
- Pangestuti, R., R. Bomi, S.W.A. Himaya, and S.K. Kim. 2013. Optimization of hydrolysis conditions, isolation, and identification of neuroprotective peptides derived from seahorse *Hippocampus trimaculatus*. *Amino Acids*, 45:369-381.
- Panithanarak, T. 2015. Phylogeny of Thai seahorse inferred from mitochondrial DNA cytochrome b gene. Proceedings of the Burapha University International Conference 2015, 10-12 July 2015, Bangsaen, Conburi. Thailand. 1010-1023pp.

- Purbasari, D. 2008. Produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 77hlm.
- Qian, Z.J., K.H. Kang, and S.K. Kim. 2012. Isolation and antioxidant activity evaluation of two new phthalate derivatives from seahorse, *Hippocampus Kuda* Bleeker. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17:1031-1040.
- Rumagit, H.M., M.R.J. Runtuwene, dan S. Sudewi. 2015. Uji fitokimia dan uji antioksidan dari ekstrak etanol spons *Lamellodysidea herbacea*. *J. Ilmiah Farmasi*, 4(3):183-192.
- Schweigert, B.S., H.R. Kraybill, and D.A. Greenwood. 2010. Amino acid composition of fresh and cooked beef cuts. *J. Science Food and Nutrition*, 56(2):156-162.
- Su, Y. and Y. Xu. 2015. Study on the extraction and purification of glycoprotein from the yellow seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeker. *Food Science and Nutrition*, 3(4):302-312.
- The Association of Official Analytical Chemist (AOAC). 2005. Official methods of analysis. 18th ed. Association of Official Analytical Chemist. Washington DC. 300p.
- Villanueva, R., J. Riba, C. Ruiz-Capillas, Gonzales AV, Baeta M. 2004. Amino acid composition of early stages of cephalopods and effect of amino acid dietary treatments on *Octopus vulgaris* paralarvae. *Aquaculture*, 242:455-478.
- West, E.S. and W.C. Todd. 1964. Text book of biochemistry. The Mac millan. Co. New York. 226p.
- Widodo, A.D. and R.T. Alan. 2010. Penggunaan steroid dalam tata laksana sepsis analisis kasus berbasis bukti. *Sari Pediatri*, 11(6):387-394.
- Winarno, F.G. 2008. Kimia pangan dan gizi. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 112hlm.
- Wu, X., B. Zhou, Y. Cheng, C. Zeng, C. Wang, and L. Feng. 2010. Comparison of gender differences in biochemical composition and nutritional value of various edible parts of the blue swimmer crab. *J. Food Composition Analysis*, 23:154-159.
- Zhang, J.S. and X.L. Lei. 2008. Extraction of glycoprotein from squid viscera and its immunomodulation. *Mod. Food Sci. Technol.*, 24:167-170.
- Diterima* : 30 Maret 2017
Direview : 07 April 2017
Disetujui : 30 November 2017

